

Colesterol HDL y su papel en la aterosclerosis: *¿Unde venis, quo vadis?*

CARLOS GARCIA SANTOS-GALLEGO*[†], ANTONIO DE MIGUEL*[‡], BORJA IBAÑEZ*[‡], JUANJ. BADIMON*[§]

Desde que por primera vez se demostró que el colesterol de alta densidad (HDL-C) inducía regresión de placas ateroscleróticas ya establecidas se ha generado mucha información acerca de las acciones protectoras de HDL-C en la aterosclerosis. Sin embargo, esta visión positiva del HDL-C prácticamente se ha olvidado a raíz de los resultados negativos obtenidos con un fármaco con potentes propiedades para elevar el HDL-C plasmático. Los niveles bajos de HDL-C son un importante factor de riesgo independiente para enfermedad cardiovascular. Por consiguiente hay una necesidad imperiosa de reducir este riesgo residual de eventos cardiovasculares y el mundo del HDL-C supone una estrategia moderna, novedosa y más que prometedora. En esta revisión intentaremos dilucidar el papel real del HDL-C en la aterosclerosis; revisaremos en primer lugar las rutas metabólicas en las cuales el HDL-C participa, para a continuación pasar a detallar las futuras dianas farmacológicas en relación con el HDL-C.

Rev Fed Arg Cardiol 2008; 37: 94-105

Palabras clave: HDL colesterol. Aterosclerosis. Placas. Factor de riesgo.

Desde que se demostró que el *colesterol de alta densidad* (HDL-C, del inglés *high-density lipoprotein cholesterol*) inducía regresión de placas ateroscleróticas ya establecidas¹ se generó mucha información acerca de las acciones protectoras del HDL-C en la aterosclerosis. Sin embargo esta visión positiva del HDL-C prácticamente ha sido olvidada a raíz de los resultados negativos obtenidos con un fármaco con potentes propiedades para elevar el HDL-C plasmático. La decepción de la comunidad científica fue inmensa cuando el ensayo clínico de morbilidad ILLUMINATE², que había sido juzgado crucial para demostrar la utilidad de ese fármaco (torcetrapib, inhibidor de la proteína CETP) tuvo que ser suspendido al encontrarse un exceso de mortalidad. En esta revisión intentaremos dilucidar el verdadero papel del HDL-C en la aterosclerosis

y encontrar su justo equilibrio, poniéndolo en perspectiva.

Se ha comprobado de manera fehaciente que la reducción del colesterol de baja densidad (LDL-C, del inglés *low-density lipoprotein cholesterol*) es una estrategia efectiva y segura para reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular (CV)³. Pero a pesar de que se han demostrado los impresionantes beneficios de las estatinas para reducir la morbilidad, todavía existe una proporción nada desdeñable de pacientes correctamente tratados en los cuales no se consigue prevenir los eventos CV. Por otra parte, los niveles bajos de HDL-C son un importante factor de riesgo independiente para la enfermedad CV.⁴ Por consiguiente es imperioso lograr una reducción de este riesgo residual de eventos CV, y el mundo del HDL-C supone una estrategia moderna, novedosa y más que prometedora.

En este artículo revisaremos, en primer lugar, las rutas metabólicas en las que participa el HDL-C, para pasar a detallar luego las futuras dianas farmacológicas en relación con el HDL-C.

ACUMULACION DE LIPIDOS EN LA PARED DE LOS VASOS EN LA ATEROESCLEROSIS

El depósito de colesterol desempeña un papel central en la aterogénesis. La disfunción endotelial (fase inicial en la aterogénesis) permite que el LDL-C penetre en la pared de los vasos y se una a los proteoglicanos del espacio endotelial en donde sufre un proceso de

* Cardiovascular Biology Research Laboratory. The Zena and Michael A. Wiener Cardiovascular Institute, Mount Sinai School of Medicine. New York, USA.

[†] Servicio de Cardiología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid, España.

[‡] Servicio de Cardiología. Hospital de León. León, España.

[§] Director del Cardiovascular Biology Research Laboratory.

Dirección postal: Juan José Badimón. Cardiovascular Biology Research Laboratory. The Zena and Michael A. Wiener Cardiovascular Institute. Mount Sinai School of Medicine. 1 Gustave Levy Place, Box 1030. 10029 New York. NY, USA.

e-mail: juan.badimon@mssm.edu

La versión digitalizada de este trabajo está disponible en www.fac.org.ar

oxidación. Este colesterol oxidado es altamente tóxico y, a modo de mecanismo de defensa, es fagocitado por los macrófagos presentes en la pared vascular; simultáneamente desencadena una serie de reacciones que, a través de diversos mediadores, originan un medio netamente proinflamatorio, perpetuando así la activación y el reclutamiento de monocitos-macrófagos y de otras células inflamatorias que perpetúan todo el proceso. Al fagocitar ese material lipídico, los macrófagos se transforman en células espumosas, y cuando fracasan en su trabajo de retirar todo el colesterol de la pared vascular se produce la apoptosis de los macrófagos y la liberación, a la pared vascular, de colesterol y, sobre todo, de sustancias inflamatorias, como el factor tisular y las metaloproteasas, que vuelven más inestables y tendientes a la ruptura a las lesiones ateroscleróticas (placa vulnerable). Se producen entonces cambios secundarios en la media y en la adventicia, especialmente en los estados avanzados, y las lesiones progresan hacia fibroateromas al desarrollar una capa de células de músculo liso vascular y de colágeno.

Por consiguiente, el exceso de *colesterol libre* (CL o colesterol no esterificado) es la piedra angular en el proceso aterosclerótico. Glomset⁵ acuñó, en 1968, el término *transporte inverso del colesterol* (TIC, del inglés *reverse cholesterol transport*) para describir el proceso mediante el cual el colesterol regresa desde la periferia al hígado para su excreción en la bilis y las heces. La existencia de esta ruta metabólica es necesaria puesto que las células no hepáticas adquieren colesterol a través de las lipoproteínas y de la síntesis *de novo*, pero (con la única excepción de los tejidos esteroideogénicos) son incapaces de catabolizarlo. El exceso de colesterol es tóxico para las células de manera que éstas han desarrollado diversas formas de protegerse de la toxicidad del CL.

La relación entre el TIC y la aterosclerosis fue sugerida, en primer lugar, por Ross y Glomset⁶ quienes postularon que las lesiones ateroscleróticas se desarrollan cuando, tras la lesión endotelial, se produce en la pared arterial un desequilibrio entre la acumulación y la retirada del colesterol (con predominio de la primera).

Miller y Miller⁷ desarrollaron este concepto cuando sugirieron, basándose en la relación inversamente proporcional entre concentraciones de HDL-C y enfermedad CV, que era necesario incrementar el HDL-C para aumentar el aclaramiento del colesterol desde la pared arterial con el fin de prevenir la enfermedad CV. En la actualidad se postula que el TIC es una de las principales explicaciones (aunque no la única, como veremos luego) del efecto ateroprotector del HDL-C.

METABOLISMO DEL HDL-C

El HDL-C es una clase de lipoproteína heterogénea, que contiene aproximadamente una cantidad idéntica de lípidos y de proteínas. Se caracteriza por su alta

densidad (> 1.063 g/mL) y su tamaño pequeño (5-17 nm). Separado mediante electroforesis en gel de agarosa, el HDL-C muestra migración hacia picos α , pre- β o γ . El HDL-C que migra hacia pico α (α -HDL) es un HDL-C maduro, formado por partículas esféricas, que supone la mayor parte del HDL en el plasma; una pequeña subpoblación de α -HDL está formada por partículas esféricas y grandes que contienen *apolipoproteína E* (apoE) y *fosfolípidos* (FL). El HDL-C que migra a pico pre- β representa bien partículas discoidales con *apolipoproteína A-I* (apoA-I) y FL (estadio precoz), bien apoA-I pobre en lípidos (estadio final).

La mayor parte de apoA-I, la proteína predominante en HDL, migra en gel de agarosa con movilidad a pico α y se denomina α -LpA-I. Esta fracción supone la mayor parte del colesterol cuantificado en el laboratorio como HDL-C. Mediante la ultracentrifugación podemos dividir el α -HDL en dos subfracciones: HDL2 (densidad comprendida entre 1.063 y 1.125 g/mL) y HDL3 (densidad comprendida entre 1.125 y 1.21 g/mL). Entre el 5% y el 15% de apoA-I en el plasma humano lo podemos encontrar formando parte del pico pre- β (partículas con movilidad electroforética pre- β)⁸.

Estas diferentes propiedades de los distintos tipos de moléculas denominadas globalmente HDL-C confirman que no todas las partículas de HDL son iguales, y por consiguiente su función (y el papel que desempeñan en la aterosclerosis) difiere de una a otra.

SINTESIS DEL HDL

La apoA-I está presente en la mayoría de las partículas de HDL-C y constituye aproximadamente el 70% del contenido total de apolipoproteína presente en las partículas de HDL-C; por eso la concentración plasmática de apoA-I está correlacionada estrechamente con la concentración plasmática de HDL-C. La apoA-II es la segunda apolipoproteína más abundante en el HDL-C, pero su misión todavía no ha sido bien definida. De todas maneras para la correcta biosíntesis de esta molécula es necesaria la presencia de ambas lipoproteínas. El HDL-C también contiene otras proteínas (apoA-IV, apoC-I, apoC-II, apoC-III, apoD, apoE, apoJ, apoL-I, apoM, amiloide sérico A, ceruloplasmina, transferina y enzimas como LCAT, PON1 y PAF-AH/Lp-PLA2.⁹

La delección del gen de apoA-I causa niveles extremadamente bajos de HDL-C en ratones.¹⁰ Los ratones con predisposición para el desarrollo de aterosclerosis (*knock-out* para LD-R o para apoE) que carecen de apoA-I desarrollan más aterosclerosis de manera estadísticamente significativa.¹¹ La sobreexpresión hepática de apoA-I incrementa los niveles de HDL-C e inhibe la progresión, consiguiendo incluso la regresión, de la aterosclerosis en ratones.^{12,13} Por lo tanto, la sobreexpresión endógena de apoA-I es considerada como una de las estrategias más prometedoras en materia de tera-

pías relacionadas con el HDL-C. Sin embargo, estudios *in vivo* en poblaciones humanas han demostrado que el principal factor que determina las concentraciones plasmáticas de HDL-C es la tasa de aclaramiento de apoA-I, no su tasa de síntesis.¹⁴

La apoA-II constituye aproximadamente el 20% del contenido en proteína del HDL-C, está presente en dos tercios de las partículas de HDL-C y se sintetiza solamente en el hígado.¹⁵ La delección del gen de apoA-II reduce de forma muy marcada los niveles plasmáticos de HDL-C en los ratones, lo cual sugiere que también es imprescindible la presencia de apoA-II para el metabolismo correcto del HDL-C cuyos niveles plasmáticos están determinados por su tasa de síntesis más que por su estado catabólico.¹⁶

Desde hace más de 30 años se sabe que el hígado¹⁷ y el intestino¹⁸ pueden sintetizar y secretar apoA-I, pero la importancia relativa de cada uno de estos órganos no fue determinada sino en épocas muy recientes. En 1999 se determinó la base molecular de la enfermedad de Tangier: una mutación con pérdida de función en ambos alelos del gen que codifica la proteína *ATP binding cassette transporter A1* (ABCA1).¹⁹⁻²¹ Esta enfermedad es una alteración del metabolismo lipídico que cursa con niveles prácticamente indetectables de HDL-C, niveles muy bajos de apoA-I (que se encuentran tan sólo en las partículas de pre-β-HDL, estadio muy precoz de la molécula de HDL-C) y acúmulo de colesterol en tejidos periféricos llenos de macrófagos. La ABCA-1 es una proteína expresada ubicuamente, que actúa como un transportador de lípidos que promueve la salida de FL y CL desde las células a las moléculas de apoA-I pobre en lípidos (pre-β-HDL). Es imprescindible la acción de la ABCA-1 para que se produzca la "lipidación" de apoA-I pobre en lípidos; de hecho, la ausencia de ABCA-1 cursa con catabolismo muy rápido de las moléculas de apoA-I que no llegan a alcanzar su madurez.²²

Desde 1999 hasta nuestros días se ha avanzado mucho en las investigaciones. Usando ratones con mutaciones específicas *knock-out* (KO) de ABCA-1, en el hígado o en el intestino, se ha llegado a la conclusión de que el hígado es el órgano principal en la síntesis de apoA-I (hasta un 70-80%)²³, mientras que el intestino sintetiza el 30% de apoA-I²⁴, aunque ambos tejidos son responsables de la lipidación de las moléculas recién secretadas de apoA-I pobre en lípidos vía ABCA-1. Este *HDL-C naciente* (que también recibe el nombre de *apoA-I pobre en lípidos*, y que presenta movilidad electroforética pre-β) generalmente contiene dos moléculas de apoA-I por partícula, mientras que los lípidos (FL y CL) apenas suponen el 10% del total de su masa.²⁵

ADQUISICION DE COLESTEROL POR PARTE DEL HDL-C NACIENTE

El proceso de adquisición de colesterol por parte del HDL-C naciente puede llevarse a cabo mediante un

variado número de mecanismos²⁶ que conducen a la formación de partículas discoidales de pre-β-HDL.

1. Difusión acuosa. La salida de CL a través de este mecanismo se lleva a cabo en todos los tipos celulares pero es bastante ineficaz. Es un mecanismo pasivo que se lleva a cabo mediante un simple proceso de difusión, de modo que el movimiento de colesterol puede ser bidireccional, y el sentido del flujo estará determinado únicamente por el gradiente químico de concentración del colesterol. Es un proceso lento (el paso de lípidos a través de la bicapa lipídica se produce en una escala de tiempo de horas).

2. Salida de CL mediada por ABCA-1. De manera opuesta al mecanismo de difusión acuosa, este movimiento de CL a través de ABCA-1 es unidireccional: sólo desde las células a las apolipoproteínas pobres en lípidos, lo cual fue demostrado al comprobarse que los macrófagos y los fibroblastos repletos de colesterol de pacientes con enfermedad de Tangier carecían de la posibilidad de transferir CL y FL a las apolipoproteínas pobres en lípidos pero sí podían transferirlos al HDL-C maduro.²⁷ Como ya hemos señalado, la ABCA-1 también media el paso inicial de lipidación de la apoA-I y la formación de HDL naciente.

Se cree que la ABCA-1 tiene un papel antiaterogénico. De hecho en humanos existe asociación entre la alteración del flujo de CL mediado por ABCA-1 y un incremento en la rigidez de la pared arterial.²⁸ Los ratones KO para ABCA-1 tienen niveles de HDL-C extremadamente bajos, muy similares a los humanos con enfermedad de Tangier.²⁹ En ratones, la deficiencia de ABCA-1 exclusivamente en los macrófagos apenas altera los niveles de HDL-C pero provoca un importante incremento de la carga aterosclerótica total.^{30,31} La sobreexpresión de ABCA-1 exclusivamente en el hígado incrementa los niveles de HDL-C³², y cuando se produce simultáneamente en los macrófagos y en el hígado se asocia con protección contra la aterosclerosis.^{33,34}

3. SR-BI. Al igual que en la difusión acuosa, pero en franco contraste con ABCA-1, el flujo de CL mediado por la molécula de SR-BI tiene lugar solamente hacia aceptores que contengan FL (es decir, HDL-C y apolipoproteínas lipidadas) y el flujo de CL es bidireccional (depende sólo del gradiente de concentración de CL a ambos lados de la membrana). Miembro de la superfamilia de CD36, SR-BI también media la captación selectiva de otros lípidos desde las lipoproteínas, como los ésteres de colesterol (EC), FL o triglicéridos (TG), promoviendo la depleción de los núcleos lipídicos de HDL-C.³⁵

Los ratones con deficiencia de SR-BI alimentados según una dieta occidental tienen notoriamente incrementado el depósito de lípidos y la aterosclerosis en la aorta.³⁶ Además, la deficiencia de SR-BI asociada con deficiencia de apoE en ratones, provoca aterosclerosis precoz³⁷ y aterosclerosis acelerada y aumento de la

mortalidad³⁸; asociada con una deficiencia de LDL-R provoca un incremento muy significativo en el desarrollo de aterosclerosis.³⁹ El trasplante de médula ósea desde ratones deficientes en SR-BI a ratones KO para LDL-R o apoE⁴⁰ provoca un importante aumento de aterosclerosis, lo cual es consistente con el papel antiateroesclerótico de SR-BI en macrófagos.

4. ABCG1/ABCG4. Recientemente se ha descubierto que la molécula ABCG1 también supone una ruta alternativa para el transporte de CL desde los macrófagos^{41,42} hasta el HDL-C maduro, nunca hacia el HDL naciente (apoA-I pobre en lípidos). De manera opuesta a ABCA1, ABCG1 promueve la salida de CL hacia las moléculas de HDL-C maduro que suponen una proporción mucho mayor respecto del total de moléculas de HDL-C que la pequeña fracción de HDL naciente. En ratones KO para ABCG1 se observa acumulación de lípidos en los macrófagos, además de un flujo deficiente de CL desde los macrófagos hacia el HDL-C maduro⁴². No obstante, la importancia de ABCG1 en humanos todavía no ha sido determinada fehacientemente.

MADURACION Y REMODELADO DEL HDL-C

Las partículas de HDL-C naciente sufren un proceso intravascular de remodelado y maduración⁴³ mediante la acción de diversas enzimas que pasamos a describir.

1. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) (En español, transferasa de grupos acilo desde lecitina a colesterol.)

En el interior de la molécula discoidal de HDL-C naciente, la LCAT cataliza la transferencia de grupos 2-acil desde la lecitina al CL captado desde las células, generando EC y lisolecitina.⁵ Los EC son más hidrofóbicos que el CL por lo cual se mueven al núcleo de la partícula de lipoproteína, formándose así la molécula madura de HDL-C, grande y esférica.⁴⁴

La LCAT es esencial para el adecuado metabolismo del HDL-C y su ausencia impide la correcta formación de partículas maduras de HDL-C con sus núcleos lipídicos normales de EC. Los ratones y los humanos deficientes en LCAT⁴⁵ tienen niveles extremadamente bajos de HDL-C y de apoA-I debido a un catabolismo acelerado.

Se ha determinado claramente, en conejos, que la sobreexpresión de LCAT incrementa las concentraciones plasmáticas de HDL-C y reduce el desarrollo de aterosclerosis.⁴⁶ Sin embargo, en ratones los datos son contradictorios, y su efecto sobre la aterosclerosis todavía no está claro.^{47,48} Una posible explicación acerca de esta indeterminación del papel de LCAT en modelos murinos es que los ratones no expresan la proteína CETP. En humanos su papel no ha sido muy estudiado: tan sólo se sabe que sujetos heterocigotos con mutacio-

nes para LCAT (la enfermedad conocida con el nombre de "ojo de pez" o *fish-eye disease*) presentan un aumento de la relación íntima-media carotídea comparados con controles familiares⁴⁹. Esto sugiere que, en humanos, una reducción de la actividad de la LCAT puede ser proaterogénica. No obstante se requieren más estudios para determinar claramente su efecto.

2. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) (En español, proteína transferidora de ésteres del colesterol.)

La CETP es una glicoproteína hidrofóbica, sintetizada en el hígado y en el tejido adiposo, que circula en el plasma unida con lipoproteínas. Promueve la transferencia de EC de partículas de HDL-C a las lipoproteínas que contengan la apoproteína B (no sólo LDL sino también los quilomicrones y el VLDL) a cambio de TG, es decir que, de manera inversa, transfiere TG desde VLDL, quilomicrones y LDL al HDL-C^{50,51}, de modo tal que el resultado final es la migración de CE de nuevo a LDL-C; el ciclo del TIC se completa con la captación de CE de nuevo por el hígado por la acción de los LDL-R hepáticos (receptores de LDL). El efecto global de la CETP sobre el HDL-C consiste en su depleción de CE y su enriquecimiento con TG, de manera que se reduce el tamaño de la partícula de HDL-C. En estrictas condiciones fisiológicas, la masa total de CETP en plasma no es el factor limitante que determina el paso de CE desde el LDL-C (lentamente catabolizado) y HDL-C, pero sí es el paso limitante en la transferencia de TG entre el HDL-C y el rápidamente metabolizado VLDL.

3. Proteína transferidora de fosfolípidos

La PLTP (por su sigla en inglés, *phospholipid transfer protein*) transfiere FL de superficie de VLDL y quilomicrones al HDL-C durante la lipólisis de TG y es, cuantitativamente hablando, la principal enzima responsable de la transferencia de FL en el plasma humano. La PLTP remodela las partículas de HDL-C y permite su fusión (de modo que aumenta su tamaño), liberando de esta manera apoA-I pobre en colesterol. En ratones, la inhibición de la PLTP provoca una reducción del 60% en los niveles de HDL-C y de apoA-I⁵² debido a un aumento en el aclaramiento del HDL-C. Por otra parte, los ratones transgénicos que sobreexpresan PLTP tienen niveles más elevados de pre-β1 HDL-C, de apoA-I y de FL.⁵³ No obstante, su papel en la fisiología humana debe ser estudiado más profundamente.

4. Lipoproteinlipasa (LPL)

La LPL es segregada por muchos tejidos del organismo, principalmente por los más activos metabólicamente, como el tejido adiposo y el músculo. Se une a la superficie luminal de las células endoteliales como homodímeros con proteoglicanos de heparansulfato, y se puede liberar de la pared vascular con la administración de heparina.

Principalmente, la LPL presenta actividad lipasa de TG con una actividad fosfolipasa mucho menor. Es la principal enzima responsable de la hidrólisis de TG; transforma partículas grandes cargadas de TG (VLDL, quilomicrones) en partículas más pequeñas (remanentes de lipoproteínas pobres en TG). Los lípidos de superficie redundantes y las apolipoproteínas sobrantes se transfieren desde los quilomicrones al HDL-C incrementando las concentraciones plasmáticas de HDL-C y de apoA-I.

Los niveles plasmáticos de HDL-C se correlacionan estrechamente con la actividad postheparina de LPL.¹³ La activación farmacológica de LPL eleva los niveles de HDL-C⁵⁴, mientras que en modelos de ratones KO para LPL⁵⁵ o en modelos de inhibición de LPL mediante anticuerpos en monos⁵⁶, se aprecian bajísimos niveles de HDL-C secundarios a un aumento en la tasa catabólica de HDL-C.

5. Lipasa hepática (HL)

La HL es una enzima sintetizada por los hepatocitos con actividad lipolítica, tanto de TG como de FL (fosfolipasa A1).⁵⁷ Tiene una mayor actividad contra HDL que contra VLDL o quilomicrones, y transforma las partículas grandes de HDL-C en partículas más pequeñas (remanentes de HDL-C y apoA-I pobre en lípidos). La hidrólisis de HDL-C por la HL es mucho más efectiva si el HDL-C está enriquecido por TG. En estados hipertriglicéridémicos (el ejemplo paradigmático es la resistencia a la insulina) la acción de la HL aumenta el catabolismo de la apoA-I y reduce la concentración de HDL-C.⁹

Los ratones con mutaciones que impiden la expresión del gen de HL presentan un leve aumento del HDL-C plasmático, más marcado en el caso de seguir una dieta rica en colesterol⁵⁷. La sobreexpresión de LH en ratones y conejos causa reducciones muy significativas en el tamaño de las partículas de HDL-C.⁵⁸ Se espera que la inhibición de la LH enlentezca el catabolismo de la apoA-I e incremente las concentraciones de HDL-C y de apoA-I.

6. Lipasa endotelial (LE)

La LE, una proteína sintetizada por células endoteliales y expresada en la superficie vascular endotelial, no fue descubierta hasta 1999 como nuevo miembro de la familia lipasa, y muestra considerable homología tanto con la LPL cuanto con la HL. No obstante, a diferencia de la HL, parece tener más actividad fosfolipasa A1 que como lipasa de TG y parece tener más afinidad por el HDL-C que por las lipoproteínas que contengan apoB.

Tanto como la HL y la LPL, la LE puede formar puentes con lipoproteínas a través de proteoglicanos de heparansulfato, y tener efectos relacionados con el ligando de importancia fisiológica, que influyan en el metabolismo *in vivo* del HDL-C.

La sobreexpresión de LE, en ratones, disminuye las concentraciones plasmáticas del HDL-C y de la apoA-I⁵⁹ debido a un catabolismo renal aumentado. De manera inversa, la delección del gen de LE⁶⁰ causa aumento en los niveles de HDL-C y de apoA-I. Las mutaciones en el gen de LE en humanos se asocian a sujetos con altos niveles de HDL-C.⁶¹ Por consiguiente, la inhibición de la LE aparece como una estrategia muy atractiva en el tratamiento de la aterosclerosis.

7. Fosfolipasa secretada A2

La familia de las sPLA2 (por su sigla en inglés, *secretory phospholipase A2*) comprende varias fosfolipasas de bajo peso molecular, que muestran actividad fosfolipasa a nivel sn-2; son capaces de hidrolizar los FL de las partículas de HDL-C. En ratones, la expresión transgénica de sPLA2 de grupo IIA conlleva reducción en los niveles de HDL-C, disminución en el tamaño de las partículas de HDL-C y un catabolismo más rápido.⁶²

CATABOLISMO DEL HDL

Como ya hemos comentado previamente, el factor determinante en las concentraciones plasmáticas de HDL-C y apoA-I es la tasa de aclaramiento de apoA-I. Los riñones, el hígado y los tejidos esteroideogénicos son los sitios principales de catabolismo del HDL-C. Estudios realizados en animales⁶³ establecieron que un tercio de apoA-I se cataboliza en los riñones mientras que el resto es catabolizado por el hígado. El aclaramiento de HDL-C puede tener lugar de dos maneras diferentes:

1. Captación de toda la partícula (holopartícula). Endocitosis y degradación lisosómica de toda la partícula (incluyendo apoA-I) que se produce tanto en el hígado como en el riñón. La apoA-I pobre en lípidos se filtra en el glomérulo y se cataboliza por las células epiteliales del túbulo contorneado proximal. Una proteína extracelular, la cubilina, sintetizada por las células tubulares proximales, se localiza en la porción apical de dichas células, anclada a ellas por otra proteína denominada "amnionless". El HDL-C y la apoA-I se unen con gran afinidad a la cubilina, que interactúa con un correceptor denominado mesalina (miembro de la familia de genes del LDL-R) para mediar la captación y degradación de la apoA-I.

El paso limitante en el catabolismo renal de apoA-I es, probablemente, la filtración glomerular más que el catabolismo tubular. Las partículas de HDL-C maduras son demasiado grandes para ser filtradas (debido al núcleo de EC), de manera que sólo la apoA-I pobre en lípidos puede filtrarse de alguna manera. Tanto la enfermedad de Tangier como la deficiencia de LCAT cursan con apoA-I pobre en lípidos, originando partículas de tamaño demasiado pequeño para evitar la filtración glomerular.

2) Captación selectiva de colesterol. Es decir, retirada del colesterol y de otros lípidos de la partícula, sin afectar al contenido proteico. El mecanismo mejor caracterizado es la captación hepática por parte del receptor hepático SR-BI.⁶⁵ Las glándulas suprarrenales y el ovario también expresan una alta densidad de SR-BI. Se trata de un receptor que media la captación selectiva de otros lípidos, siendo las constantes de captación más altas para EC y CL y más bajas para FL y TG.

La sobreexpresión de SR-BI reduce las concentraciones plasmáticas de HDL-C y de apoA-I debido a un aumento de su aclaramiento.⁶⁶ La sobreexpresión hepática de SR-BI en ratones⁶⁷ produce aumento del TIC (a pesar de presentar, paradójicamente, bajos niveles de HDL-C). La deficiencia de SR-BI se asocia con un marcado incremento de la aterosclerosis y un TIC muy reducido, a pesar de altos niveles de HDL-C.³⁸ Parece, pues, existir una relación inversa entre la expresión hepática de SR-BI y el desarrollo de aterosclerosis.³⁶⁻³⁸

Se ha postulado que el colesterol transportado en HDL-C se dirige más directamente hacia la excreción biliar que otros tipos de colesterol.⁶⁸ El CL movilizado en HDL-C puede ser excretado directamente a la bilis o convertirse en ácidos biliares (la enzima limitante para esta reacción es la 7 α -hidroxilasa) antes de la excreción biliar.²⁵ Se ha descubierto la existencia de dos transportadores, ABCG5 y ABCG8 (del inglés *ATP-binding cassette*) que se unen como heterodímeros en la membrana apical de los hepatocitos, limitan la absorción de esteroides y promueven la excreción biliar de esteroides en humanos. Ratones transgénicos con sobreexpresión de ABCG5/ABCG8 muestran un incremento en la excreción biliar de colesterol.⁶⁹ Inversamente, la deficiencia genética de ABCG5 o de ABCG8 causa sitosterolemia⁷⁰, caracterizada por excreción reducida de esteroides y elevados niveles de colesterol y de otros esteroides derivados de plantas (fitoesteroides) en el plasma y en los tejidos.

El ABCB11, también conocido como bomba exportadora de sales biliares, es otra molécula que transporta ácidos biliares desde la membrana apical del hepatocito a la bilis. Quien desee más información, puede ampliar sus conocimientos en el tema en una excelente revisión⁷¹ sobre receptores biliares e intestinales.

En el íleo terminal se produce una ávida reabsorción de bilis mediante el transportador intestinal de ácidos biliares, de manera que hasta el 50%-80% del colesterol presente en la bilis es reabsorbido (por mecanismos aún no bien caracterizados). Clásicamente se consideraba que este colesterol reabsorbido sólo podía seguir dos caminos: transferencia a los quilomicrones o incorporación al HDL-C a través de la ABCA1. No obstante se ha descubierto recientemente que los enterocitos del epitelio intestinal expresan ABCG5 y ABCG8, de manera que este colesterol reabsorbido puede ser reexcretado nuevamente al lumen intestinal; vale decir

que el intestino puede provocar excreción neta del colesterol.

OTROS EFECTOS VASCULOPROTECTORES INDEPENDIENTES DEL TRANSPORTE REVERSO DEL COLESTEROL

Como comentamos previamente, el HDL-C parece ejercer su efecto ateroprotector no sólo a través del TIC sino también a través de otros mecanismos (tiene efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antitrombóticos y de mejoría de la función endotelial). Estos mecanismos escapan al objetivo de esta revisión, pero remitimos al lector curioso a algunos trabajos magistrales^{10,72,73} que revisan en profundidad esos efectos.

NUEVAS ESTRATEGIAS PARA INCREMENTAR EL HDL-C

Desde las primeras demostraciones experimentales del efecto beneficioso del HDL-C en la aterosclerosis^{1,74,75}, este se convirtió en una diana terapéutica más que tentadora. Las guías americanas del *National Cholesterol Education Program (MCEP) Adult Treatment Panel (ATP) III*⁷⁶ reconocen los bajos niveles de HDL-C (< 40 mg/dL) como uno de los cinco factores de riesgo mayores para enfermedad CV, como un componente del síndrome metabólico, como un componente del sistema de valoración del riesgo de Framingham (*score*) y como una diana potencial de intervención. Además, un número cada vez mayor de expertos considera que los bajos niveles de colesterol pueden merecer tratamiento incluso en un abanico más amplio de pacientes. Por consiguiente, nuevas terapias relacionadas con el HDL-C están continuamente en desarrollo.

Receptor hepático X (*liver receptor X* o LXR)

El LXR α y el LXR β (también denominados NRH3 y NRH2, respectivamente) son receptores recientemente clonados basados en homología de secuencias con otros receptores. Originalmente fueron considerados receptores nucleares "huérfanos" pero fueron "adoptados" cuando se descubrió que sus ligandos naturales eran los oxisteroides (metabolitos del colesterol). El LXR α se expresa con muy alta densidad en el hígado, y a niveles más bajos en las glándulas suprarrenales, el intestino, el tejido adiposo, los macrófagos, los pulmones y el riñón.⁷⁷ El LXR β es casi universalmente expresado (la isoforma predominante en el hígado es LXR α). Los LXR actúan como factores de transcripción activados por ligandos que se asocian con los receptores retinoides X (RXR) para formar heterodímeros permisivos (es decir, el complejo puede ser activado por ligandos de cualquiera de los monómeros). Los LXR residen en el núcleo y permanecen generalmente unidos a correpressores; cuando los ligandos se unen a LXR se produce un cambio conformacional que hace que el heterodímero LXR/RXR sea capaz de unirse a los

LXREs (elementos de respuesta de LXR) en el ADN.⁷⁸

Los LXR tienen un efecto global ateroprotector.^{77,78} Los agonistas de los LXR aumentan los niveles de HDL-C y la excreción neta de colesterol al incrementar la expresión de ABCA1, ABCG1, ABCG5/ABCG8 y 7-alfahidroxilasa (que es, recordémoslo, la enzima limitante en la síntesis de ácidos biliares). El LXR incrementa la expresión de apoE en los macrófagos y en el tejido adiposo (no así en el hígado), la cual desempeña un papel ateroprotector muy bien establecido.

Además, los agonistas de LXR también mejoran la tolerancia a la glucosa en modelos animales (disminuyen la salida de glucosa del hígado, regulan a la baja la neoglucogénesis, incrementan la expresión del transportador de glucosa GLUT, e incrementan la secreción de insulina dependiente de glucosa). Ambas isoformas de LXR poseen propiedades antiapoptóticas y antiinflamatorias (al reducir la expresión de iNOS, COX2, IL-6, IL-1 β , MMP9 y MCP-1, secundaria a inhibición de la ruta metabólica NF-KB).

La falta de expresión de LXR en los macrófagos provoca un gran aumento en el tamaño de la lesión aterosclerótica.⁷⁹ Los agonistas sintéticos del LXR inhiben la progresión de la aterosclerosis^{80,81} e incluso parecen poder producir una regresión del proceso aterosclerótico en modelos de ratones KO para LDL-R y apoE⁸². No obstante en la actualidad se está moderando el entusiasmo surgido a partir de estos estudios dado que, como efectos secundarios, causan hipertrigliceridemia e hígado graso, en gran parte a causa de la regulación al alza de la molécula hepática SREBP-1c⁷⁷ que eleva los triglicéridos en el hígado. Existen dos alternativas para evitar estos efectos secundarios: bien moduladores de LXR selectivos para tejidos específicos (macrófagos más que hígado) o de genes concretos (ya que el LXR parece regular por diferentes rutas la sobreexpresión de ABCA1 y de SREBP-1c), o bien desarrollar agonistas del LXR selectivos para cada isoforma (dado que el LXR β parece inducir TIC sin las complicaciones hepáticas atribuidas al LXR α). De hecho se ha descrito que uno de estos agonistas selectivos de LXR induce menos esteatosis hepática.⁸³

Inhibidores de la CETP

Grupos de investigadores japoneses demostraron, por primera vez, que las mutaciones en el gen CETP que causaban deficiencia en la actividad de CETP eran la causa de los altos niveles de HDL-C en pacientes japoneses diagnosticados de hiperalfalipoproteinemia familiar.^{84,85} Estas mutaciones son relativamente frecuentes (se presentan en hasta un 7% de la población general de Japón e incluso en porcentajes más elevados en el distrito Omagari, con hasta un 25% de la población) y producen nula actividad de la CETP y concentraciones de HDL-C muy elevadas (hasta 165 \pm 39 mg/dL) debido a la acumulación de EC en la fracción de HDL-C,

con incrementos asociados de apoA-I y apoA-II secundarios a la reducción del catabolismo.⁸⁶

Sin embargo, los estudios epidemiológicos contaban una historia muy diferente. Un estudio sobre la población de la ciudad de Omagari concluyó que era mucho menos probable que las personas mayores de 80 años fueran portadoras de la mutación de CETP y que, de hecho, la deficiencia de CETP se asociaba con una alta probabilidad de enfermedad CV.⁸⁷ El siguiente estudio epidemiológico (*Honolulu Heart Study*) mostró que los hombres descendientes de japoneses que fueran heterocigotos para estas mutaciones presentaban una incidencia más elevada de eventos CV comparados con hombres con niveles similares de HDL-C pero que no fueran portadores de la mutación.⁸⁸

Los modelos de aterosclerosis en conejos sugerían un efecto antiateroesclerótico.⁸⁹ El primer inhibidor de la CETP que fue probado (JTT-705) mostró un incremento en los niveles de HDL-C de hasta un 34%.⁹⁰ El siguiente (torcetrapib) mostró resultados más que prometedores en ensayos clínicos de fase I.⁹¹ De hecho, en un estudio fase II, ciego simple, en el que se incluyeron 19 sujetos, se logró un incremento de los niveles de HDL-C desde un 46% (con torcetrapib a dosis de 120 mg/día) hasta un 106% (con dosis de 120 mg/12 horas).⁹²

A pesar de estos impresionantes efectos, los resultados de ensayos clínicos con puntos finales duros (morbimortalidad) han proscrito esta droga del arsenal terapéutico, imposibilitando su uso en seres humanos. El ensayo ILLUMINATE² demostró un riesgo incrementado de eventos CV y de muerte por cualquier causa en el brazo torcetrapib. Además, en este brazo se produjo un exceso de riesgo de insuficiencia cardíaca congestiva, procedimientos de revascularización, aumento estadísticamente significativo de 5,4 mmHg en la presión arterial, descenso en la kalemia, y aumentos del sodio, del bicarbonato y de la aldosterona. Como consecuencia, todos los ensayos clínicos con torcetrapib fueron interrumpidos el 12 de diciembre de 2006.

Los estudios con técnicas de imagen obtuvieron resultados muy congruentes con este incremento en la morbimortalidad CV (falta de regresión, e incluso progresión, de las lesiones ateroscleróticas en el brazo torcetrapib). El estudio ILLUSTRATE, que incluyó 1.188 pacientes con enfermedad coronaria ya establecida, demostró que no había diferencias en la progresión de la aterosclerosis coronaria (medida usando IVUS) entre torcetrapib y torcetrapib+atorvastatina.⁹³ El estudio RADIANCE I confirmó que el torcetrapib carecía de efecto en la aterosclerosis carotídea (espesor íntima-media) en 850 pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigoto.⁹⁴ El estudio RADIANCE II⁹⁵, doble ciego, que observó el efecto de torcetrapib en la progresión de la aterosclerosis carotídea en 683 pacientes con dislipemia mixta tuvo un punto final primario neutro tras un seguimiento de 24 meses, y los puntos finales

secundarios resultaron negativos (en contra de torcetrapib; $p = 0,46$) a pesar de los impresionantes incrementos en el HDL-C.

Mucho se ha discutido en torno de estos resultados desalentadores y decepcionantes. El *quid* de la cuestión radica en discernir si el efecto deletéreo del torcetrapib se debe a sus propiedades intrínsecas (propias de esta molécula en concreto, o sea *fracaso de la molécula*) o si el concepto global de inhibición de la CETP es erróneo (*fracaso del mecanismo*).

1. Hipótesis de fracaso del mecanismo. Desafortunadamente, la inhibición de la CETP no sólo produce cambios cuantitativos en el perfil lipídico, sino también cambios cualitativos en las partículas de HDL-C, alterando su funcionalidad. La deficiencia de CETP parece favorecer la acumulación de moléculas de HDL-C más grandes y repletas, sobrecargadas de EC y, por lo tanto, con menor capacidad para promover la salida de colesterol de los macrófagos⁹⁶ que la que poseen las pequeñas moléculas iniciales de HDL-C (apoA-I pobre en lípidos). Por lo demás, la mayor parte de los EC excretados en la bilis parecen ser transferidos desde el HDL-C a las apolipoproteínas que contienen apoB⁹⁷, lo cual implica que la inhibición de la CETP bloquea la excreción de EC en la bilis. Por lo tanto, el principal fallo de torcetrapib, según esta hipótesis, consistiría en producir una elevación del HDL-C sin aumentar el TIC. En otras palabras, el HDL-C producido por los inhibidores de la CETP parece ser disfuncionante.

2. Hipótesis de fracaso de la molécula. Esta hipótesis sostiene que los efectos tóxicos de torcetrapib radican exclusivamente en la molécula de esta droga, no en la estrategia de incrementar las concentraciones de HDL-C mediante inhibidores de la CETP. En el estudio ILLUSTRATE, el tratamiento con torcetrapib se asoció con un incremento de 4,6 mmHg en la presión arterial sistólica media; más aún, aproximadamente un 4% de los sujetos experimentó incrementos en la presión arterial superiores a los 15 mmHg. El efecto hipertensivo de torcetrapib probablemente no esté relacionado con la inhibición de la CETP, dado que estos incrementos no se detectan en los sujetos con mutaciones genéticas de la CETP. Además, otros tipos de inhibidores de la CETP no producen este efecto secundario. Aunque el aumento de la tensión arterial parece modesto, indica un efecto encubierto de toxicidad del torcetrapib, como por ejemplo la activación del sistema renina-angiotensina. De hecho, dado que el torcetrapib disminuye los niveles de potasio sérico al tiempo que aumenta las concentraciones séricas de sodio, bicarbonato y aldosterona, se ha sugerido que puede tener asociada una toxicidad suprarrenal, aunque se necesitan más estudios para interpretar esta relación.

Apo A-I_{Milano}

En 1985, Sirtori y Franceschini estudiaron a un pequeño grupo de personas de la villa italiana de Limone

sul Garda, a orillas del lago Como (Italia). Estas personas compartían un curioso perfil lipídico común, consistente en concentraciones plasmáticas extremadamente bajas de HDL-C y apoA-I, y elevados niveles de TG, pero acompañado por un riesgo CV sorprendentemente bajo.^{98,99} Se comprobó que este perfil era provocado por una mutación en el gen de apoA-I (sustitución de arginina por una cisteína en la posición 173) que conduce a la formación de homodímeros y heterodímeros con la apoA-II *wild type* (salvaje) en los portadores. Todas esas personas eran descendientes de una pareja única, rastreada en los registros parroquiales hasta 1780 (Giovanni Pomaroli y Rosa Giovanelli) y eran heterocigotos para el alelo mutante. La baja tasa de eventos CV ha sugerido la teoría de que esta molécula, denominada apoA-I_{Milano} es mucho más funcional que la apoA-I salvaje.¹⁰⁰

Repetidas administraciones del complejo apoA-I_{Milano} recombinante/FL reduce sustancialmente la aterosclerosis ileofemoral en modelos de aterosclerosis en conejos alimentados con una dieta rica en colesterol.¹⁰¹ A altas dosis, promueve la regresión de la aterosclerosis aórtica en ratones KO para apo-E alimentados con una dieta rica en colesterol, a pesar de la hipercolesterolemia tan severa que se genera¹⁰², produciendo una placa más estable al disminuir su contenido en lípidos y macrófagos. Además, reduce los efectos proapoptóticos de los oxisteroles en las células de músculo liso vascular, promoviendo una placa más estable¹⁰³, reduce el engrosamiento neointimal por sus efectos antiinflamatorios¹⁰⁴, mejora la función endotelial¹⁰⁵ y ha demostrado efectos cardioprotectores en un modelo de isquemia/reperfusión sobre la arteria descendente anterior¹⁰⁶.

Estos hallazgos han sido confirmados en humanos. Cinco dosis de inyecciones semanales de apoA-I_{Milano} administradas a pacientes con síndrome coronario agudo consiguieron una muy significativa regresión de la aterosclerosis coronaria (-4,2%) medida por IVUS¹⁰⁷. Aunque prometedores, estos resultados requieren confirmación en ensayos clínicos con muchos pacientes y con puntos finales duros (morbimortalidad).

Nuestro grupo ha confirmado estos interesantes hallazgos y ha brindado explicaciones nuevas.¹⁰⁸ En un modelo de aterosclerosis en conejos, el tratamiento con apoA-I_{Milano} produjo regresión de la placa (una regresión del 5% en el volumen de la placa, medida por resonancia magnética) y signos de estabilización de la misma: reducción en la densidad de macrófagos y una muy significativa regulación a la baja en la expresión del factor tisular, MCP-1 y COX2, así como una marcada disminución en la actividad gelatinolítica y una regulación al alta de COX1.

CONCLUSIONES

El HDL-C parece ser una diana terapéutica muy atractiva y plausible en el tratamiento de esta moderna

epidemia mundial que es la enfermedad cardiovascular. Sin embargo resulta de fundamental importancia comprender que no todas las partículas de esa familia tan heterogénea que es el HDL-C son iguales. La misión del HDL-C naciente (apoA-I pobre en lípidos, fase inicial del HDL-C) es retirar el colesterol de los tejidos extrahepáticos y devolverlo al hígado, mientras que los efectos de las partículas de HDL-C en su fase final (HDL-C esférico y repleto de lípidos) todavía no han sido bien comprendidos. También es clave el hecho de que el incremento del HDL-C por diferentes mecanismos no tiene por qué conducir a los mismos efectos. El reciente fracaso del inhibidor de CETP torcetrapib no debe ser considerado el fracaso de todas las terapias que incrementan el HDL-C en la prevención CV, sino que debe ser tomado más bien como una prueba de que los efectos beneficiosos del HDL-C dependerán principalmente de su calidad y no de su cantidad.

SUMMARY

THE ROLE OF HIGH DENSITY CHOLESTEROL IN ATHEROSCLEROSIS

Since for the first time it was demonstrated that the high density cholesterol (HDL-C) induces regression of atherosclerotic plaques already established, a lot of information has been generated about the protective actions of HDL-C in atherosclerosis. Nevertheless, this positive point of view of the HDL-C practically has been forgotten immediately after the negative results obtained with a drug with powerful properties to raise the HDL-C. The low levels of HDL-C are an important independent risk factor for cardiovascular disease. Consequently it is necessary to reduce this residual risk of cardiovascular events and the world of the HDL-C means a modern and novel strategy. In this review we will try to elucidate the real role of the HDL-C in atherosclerosis, first we will review the metabolic routes in which the HDL-C takes part, and then we will detail the future pharmacological targets as regards HDL cholesterol.

Key words: HDL cholesterol. Atherosclerosis. Plaques. Risk factor.

Bibliografía

1. Badimon JJ, Badimon L, Fuster V: Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. *J Clin Invest* 1998; 85: 1234-1241.
2. Barter, PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJ, Komajda M, et al: Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med* 2007; 357: 2109-2122.
3. Ibanez B, Vilahur G, Badimon J: Plaque progression and regression in atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 292-299.
4. Choi BG, Vilahur G, Yadegar D, Viles-Gonzalez JF, Badimon JJ: The role of high-density lipoprotein cholesterol in the prevention and possible treatment of cardiovascular diseases. *Curr Mol Med* 2006; 6: 571-587.
5. Glomset JA: The plasma lecithins: cholesterol acyltransferase reaction. *J Lipid Res* 1968; 9: 155-167.
6. Ross R, Glomset JA: Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science* 1973; 180: 1332-1339.
7. Miller GJ, Miller NE: Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. *Lancet* 1975; 1: 16-19.
8. Assmann G, Gotto AM Jr: HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109: III8-III14.
9. Lewis GF, Rader DJ: New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res* 2005; 96: 1221-1232.
10. Williamson R, Lee D, Hagaman J, Maeda N: Marked reduction of high density lipoprotein cholesterol in mice genetically modified to lack apolipoprotein A-I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7134-7138.
11. Moore RE, Navab M, Millar JS, Zimetti F, Hama S, Rothblat GH, et al: Increased atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein A-I attributable to both impaired reverse cholesterol transport and increased inflammation. *Circ Res* 2005; 97: 763-771.
12. Rubin EM, Krauss RM, Spangler EA, Verstuyft JG, Clift SM: Inhibition of early atherogenesis in transgenic mice by human apolipoprotein A-I. *Nature* 1991; 353: 265-267.
13. Tangirala RK, Tsukamoto K, Chun SH, Usher D, Pure E, Rader DJ: Regression of atherosclerosis induced by liver-directed gene transfer of apolipoprotein A-I in mice. *Circulation* 1999; 100: 1816-1822.
14. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL: Human HDL cholesterol levels are determined by apoA-I fractional catabolic rate, which correlates inversely with estimates of HDL particle size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 707-720.
15. Rader DJ: Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *J Clin Invest* 2006; 116: 3090-3100.
16. Ikewaki K, Zech LA, Kindt M, Brewer HB Jr, Rader DJ: Apolipoprotein A-II production rate is a major factor regulating the distribution of apolipoprotein A-I among HDL subclasses LpA-I and LpA-I:A-II in normolipidemic humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 306-312.
17. Hamilton RL, Williams MC, Fielding CJ, Havel RJ: Discoidal bilayer structure of nascent high density lipoproteins from perfused rat liver. *J Clin Invest* 1976; 58: 667-680.
18. Green PH, Tall AR, Glickman RM: Rat intestine secretes discoidal high density lipoprotein. *J Clin Invest* 1978; 61: 528-534.
19. Rust S, Rosier M, Funke H, Real J, Amora Z, Piette JC, et al: Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1. *Nat Genet* 1999; 22: 352-355.
20. Bodzioch M, Orso E, Kluchen J, Langmann T, Bottcher A, Diederich W, et al: The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. *Nat Genet* 1999; 22: 347-351.
21. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, van Dam M, et al: Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet* 1999; 22: 336-345.
22. Schaefer EJ, Blum CB, Levy RI, Jenkins LL, Alaupovic P, Foster DM, et al: Metabolism of high-density lipoprotein apolipoproteins in Tangier disease. *N Engl J Med* 1978; 299: 905-910.
23. Timmins JM, Lee JY, Boudyguina E, Kluckman KD, Brunham LR, Mulya A, et al: Targeted inactivation of hepatic ABCA1 causes profound hypoalphalipoproteinemia and kidney hypercatabolism of apoA-I. *J Clin Invest* 2005; 115: 1333-1342.
24. Brunham LR, Kruit JK, Iqbal J, Fievet C, Timmins JM, Pape

- TD, et al: Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo. *J Clin Invest* 2006; 116: 1052-1062.
25. Cuchel M, Rader DJ: Macrophage reverse cholesterol transport: key to the regression of atherosclerosis? *Circulation* 2006; 113: 2548-2555.
 26. Yancey PG, Bortnick AE, Kellner-Weibel G, de la Llera-Moya M, Phillips MC, Rothblat GH: Importance of different pathways of cellular cholesterol efflux. *Arterioscler Thromb Biol* 2003; 23: 712-219.
 27. Francis GA, Knopp RH, Oram JF: Defective removal of cellular cholesterol and phospholipids by apolipoprotein A-I Tangier disease. *J Clin Invest* 1995; 96: 78-87.
 28. van Dam MJ, de Groot E, Clee SM, Hovingh GK, Roelants R, Brooks-Wilson A, et al: Association between increased arterial-wall thickness and impairment in ABCA1-driven cholesterol efflux: an observational study. *Lancet* 2002; 359: 37-42.
 29. Aiello RJ, Brees D, Francone OL: ABCA1-deficient mice: insights into the role of monocyte lipid efflux in HDL formation and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 972-980.
 30. Aiello RJ, Brees D, Bourassas PA, Royer L, Lindsey S, Coskran T, et al: Increased atherosclerosis in hyperlipidemic mice with inactivation of ABCA1 in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 630-637.
 31. van Eck M, Bos IS, Kaminski WE, Orso E, Rothe G, Twisk J, et al: Leukocyte ABCA1 controls susceptibility to atherosclerosis and macrophage recruitment into tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 6298-6303.
 32. Wellington CL, Brunham LR, Zhou S, Singaraja RR, Visscher H, Gelfer A, et al: Alterations of plasma lipids in mice via adenoviral-mediated hepatic overexpression of human ABCA1. *J Lipid Res* 2003; 44: 1470-1480.
 33. Vaisman BL, Lambert G, Amar M, Joyce C, Ito T, Shamburek RD, et al: ABCA1 overexpression leads to hyperalphalipoproteinemia and increased biliary cholesterol excretion in transgenic mice. *J Clin Invest* 2001; 108: 303-309.
 34. Singaraja RR, Fievat C, Castro G, James ER, Hennuyer N, Clee SM, et al: Increased ABCA1 activity protects against atherosclerosis. *J Clin Invest* 2002; 110: 35-42.
 35. Thuahnai ST, Lund-Katz S, Williams DL, Phillips MC: Scavenger receptor class B, type I-mediated uptake of various lipids into cells. Influence of the nature of the donor particle interaction with the receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 43801-43808.
 36. Van Eck M, Twisk J, Hoekstra M, Van Rij BT, Van der Lans CA, Bos IS, et al: Differential effects of scavenger receptor BI deficiency on lipid metabolism in cells of the arterial wall and in the liver. *J Biol Chem* 2003; 278: 23699-23705.
 37. Trigatti B, Rayburn H, Vinals M, Braun A, Miettinen H, Penman M, et al: Influence of the high density lipoprotein receptor SR-BI on reproductive and cardiovascular pathophysiology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 9322-9327.
 38. Braun A, Trigatti BL, Post MJ, Sato K, Simons M, Edelberg JM, et al: Loss of SR-BI expression leads to the early onset of occlusive atherosclerotic coronary artery disease, spontaneous myocardial infarctions, severe cardiac dysfunction, and premature death in apolipoprotein E-deficient mice. *Circ Res* 2002; 90: 270-276.
 39. Covey SD, Krieger M, Wang W, Penman M, Trigatti BL: Scavenger receptor class B type I-mediated protection against atherosclerosis in LDL receptor-negative mice involves its expression in bone marrow-derived cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1589-1594.
 40. Zhang W, Yancey PG, Su YR, Babaev VR, Zhang Y, Fazio S, et al: Inactivation of macrophage scavenger receptor class B type I promotes atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2003; 108: 2258-2263.
 41. Wang N, Lan D, Chen W, Matsuura F, Tall AR: ATP-binding cassette transporters G1 and G4 mediate cellular cholesterol efflux to high-density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 9774-9779.
 42. Kennedy MA, Barrera GC, Nakamura K, Baldan A, Tarr P, Fishbein ME, et al: ABCG1 has a critical role in mediating cholesterol efflux to HDL and preventing cellular lipid accumulation. *Cell Metabol* 2005; 1: 121-131.
 43. Curtiss LK, Valenta DT, Hime NJ, Rye KA: What is so special about apolipoprotein AI in reverse cholesterol transport? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 12-19.
 44. Jonas A: Lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1529: 245-256.
 45. Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J, Frolich J, Assmann G, Kastelein J: The molecular pathology of lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res* 1997; 38: 191-205.
 46. Hoeg JM, Santamarina-Fojo S, Berard AM, Cornhill JF, Herderick EE, Feldman SH, et al: Overexpression of lecithin cholesterol acyltransferase in transgenic rabbits prevents diet-induced atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11448-11453.
 47. Berard AM, Foger B, Remaly A, Shamburek R, Vaisman BL, Talley G, et al: High plasma HDL concentrations associated with enhanced atherosclerosis in transgenic mice overexpressing lecithin-cholesteryl acyltransferase. *Nat Med* 1997; 3: 744-749.
 48. Lambert G, Sakai N, Vaisman BL, Neufeld EB, Marteyn B, Chan CC, et al: Analysis of glomerulosclerosis and atherosclerosis in lecithin cholesterol acyltransferase-deficient mice. *J Biol Chem* 2001; 276: 15090-15098.
 49. Hovingh GK, Hutten BA, Holleboom AG, Petersen W, Rol P, Stalenhoef A, et al: Compromised LCAT function is associated with increased atherosclerosis. *Circulation* 2005; 112: 879-884.
 50. Barter PJ, Brewer HB Jr, Chapman MJ, Hennekens CH, Rader DJ, Tall AR: Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 160-167.
 51. Shah PK: Inhibition of CETP as a novel therapeutic strategy for reducing the risk of atherosclerotic disease: *Eur Heart J* 2007; 28: 5-12.
 52. Jiang XC, Bruce C, Mar J, Lin M, Ji Y, Francone OL, et al: Targeted mutation of plasma phospholipid transfer protein gene markedly reduces high-density lipoprotein levels. *J Clin Invest* 1999; 103: 907-914.
 53. Jiang X, Francone OL, Bruce C, Milne R, Mar J, Walsh A, et al: Increased prebeta-high density lipoprotein, apolipoprotein AI, and phospholipid in mice expressing the human phospholipid transfer protein and human apolipoprotein AI transgenes. *J Clin Invest* 1996; 98: 2373-2380.
 54. Tsutsumi K, Inoue Y, Shima A, Iwasaki K, Kawamura M, Murase T: The novel compound NO-1886 increases lipoprotein lipase activity with resulting elevation of high density lipoprotein cholesterol, and long-term administration inhibits atherogenesis in the coronary arteries of rats with experimental atherosclerosis. *J Clin Invest* 1993; 92: 411-417.
 55. Weinstock PH, Bisgaier CL, Aalto-Setälä K, Radner H, Ramakrishnan R, Levak-Frank S, et al: Severe hypertriglyceridemia, reduced high density lipoprotein, and neonatal death in lipoprotein lipase knockout mice. Mild hypertriglyceridemia with impaired very low density lipoprotein clearance in heterozygotes. *J Clin Invest* 1995; 96: 2555-2568.
 56. Goldberg IJ, Blaner WS, Vanni TM, Moukides M, Ramakrishnan R: Role of lipoprotein lipase in the regulation of high density lipoprotein apolipoprotein metabolism. Studies in normal and lipoprotein lipase-inhibited monkeys. *J Clin Invest* 1990; 86: 463-473.
 57. Jansen H, Verhoeven AJ, Sijbrands EJ: Hepatic lipase: a pro- or anti-atherogenic protein? *J Lipid Res* 2002; 43: 1352-1362.
 58. Homanics GE, de Silva HV, Osada J, Zhang SH, Wong H,

- Borensztajn J, et al: Mild dyslipidemia in mice following targeted inactivation of the hepatic lipase gene. *J Biol Chem* 1995; 270: 2974-2980.
59. Ishida T, Choi S, Kundu RK, Hirata K, Rubin EM, Cooper AD, Quertermous T: Endothelial lipase is a major determinant of HDL level. *J Clin Invest* 2003; 111: 347-355.
 60. Ma K, Cilingiroglu M, Otvos JD, Ballantyne CM, Marian AJ, Chan L: Endothelial lipase is a major genetic determinant for high-density lipoprotein concentration, structure, and metabolism. *Proc Natl Acad Sci US* 2003; 100: 2748-2753.
 61. de Lemos AS, Wolfe ML, Long CJ, Sivapachianathan R, Rader DJ: Identification of genetic variants in endothelial lipase in persons with elevated high-density lipoprotein cholesterol. *Circulation* 2002; 106: 1321-1326.
 62. Murakami M, Kudo I: New phospholipase A(2) isozymes with a potential role in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14: 431-436.
 63. Glass C, Pittman RC, Weinstein DB, Steinberg D: Dissociation of tissue uptake of cholesterol ester from that of apoprotein A-I of rat plasma high density lipoprotein: selective delivery of cholesterol ester to liver, adrenal, and gonad. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 5435-5439.
 64. Moestrup SK, Kozyraki R: Cubilin, a high-density lipoprotein receptor. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11: 133-140.
 65. Trigatti BL, Krieger M, Rigotti A: Influence of the HDL receptor SR-BI on lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1732-1738.
 66. Kozarsky KF, Donahee MH, Rigotti A, Iqbal SN, Edelman ER, Krieger M: Overexpression of the HDL receptor SR-BI alters plasma HDL and bile cholesterol levels. *Nature* 1997; 387: 414-417.
 67. Zhang Y, Da Silva JR, Reilly M, Billheimer JT, Rothblat GH, Rader DJ: Hepatic expression of scavenger receptor class B type I (SR-BI) is a positive regulator of macrophage reverse cholesterol transport in vivo. *J Clin Invest* 2005; 115: 2870-2874.
 68. Schwartz CC, Halloran LG, Vlahcevic ZR, Gregory DH, Swell L: Preferential utilization of free cholesterol from high-density lipoproteins for biliary cholesterol secretion in man. *Science* 1978; 200: 62-64.
 69. Yu L, Li-Hawkins J, Hammer RE, Berge KE, Horton JD, Cohen JC, et al: Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol. *J Clin Invest* 2002; 110: 671-680.
 70. Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, et al: Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 2000; 290: 1771-1775.
 71. Kullak-Ublick GA, Stieger B, Meier PJ: Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 322-342.
 72. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW: Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ Res* 2006; 98: 1352-1364.
 73. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM: Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res* 2004; 95: 764-772.
 74. Badimon JJ, Badimon L, Galvez A, Dische R, Fuster V: High density lipoprotein plasma fractions inhibit aortic fatty streaks in cholesterol-fed rabbits. *Lab Invest* 1989; 60: 455-461.
 75. Badimon JJ, Fuster V, Badimon L: Role of high density lipoproteins in the regression of atherosclerosis. *Circulation* 1992; 86: III86-III94.
 76. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *J Am Med Acad* 2001; 285: 2486-2497.
 77. Zelcer N, Tontonoz P: Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling. *J Clin Invest* 2006; 116: 607-614.
 78. Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P: Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat Med* 2003; 9: 213-219.
 79. Tangirala RK, Bischoff ED, Joseph SB, Wagner BL, Walczak R, Laffitte BA, et al: Identification of macrophage liver X receptors as inhibitors of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 11896-11901.
 80. Joseph SB, McMilligin E, Pei L, Watson MA, Collins AR, Laffitte BA, et al: Synthetic LXR ligand inhibits the development of atherosclerosis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 7604-7609.
 81. Teresaka N, Hiroshima A, Koieyama T, Ubukata N, Morikawa Y, Nakai D, et al: T-0901317, a synthetic liver X receptor ligand, inhibits development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *FEBS Lett* 2003; 536: 6-11.
 82. Levin N, Bischoff ED, Daige CL, Thomas D, Vu CT, Heyman RA, et al: Macrophage liver X receptor is required for antiatherogenic activity of LXR agonists. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 135-142.
 83. Miao B, Zondlo S, Gibbs S, Cromley D, Hosagrahara VP, Kirchgessner TG, et al: Raising HDL cholesterol without inducing hepatic steatosis and hypertriglyceridemia by a selective LXR modulator. *J Lipid Res* 2004; 45: 1410-1417.
 84. Inazu J, Brown ML, Hesler CB, Agellon LB, Koizumi J, Takata K, et al: Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med* 1990; 323: 1234-1238.
 85. Inazu A, Jiang XC, Haraki T, Yagi K, Kamon N, Koizumi J, et al: Genetic cholesteryl ester transfer protein deficiency caused by two prevalent mutations as a major determinant of increased levels of high density lipoprotein cholesterol. *J Clin Invest* 1994; 94: 1872-1882.
 86. Ikewaki K, Rader DJ, Sakamoto T, Nishiwaki M, Wakimoto N, Schaefer JR, et al: Delayed catabolism of high density lipoprotein apolipoproteins A-I and A-II in human cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Clin Invest* 1993; 92: 1650-1658.
 87. Hirano K, Yamashita S, Nakajima N, Arai T, Maruyama T, Yoshida Y, et al: Genetic cholesteryl ester transfer protein deficiency is extremely frequent in the Omagari area of Japan. Marked hyperalphalipoproteinemia caused by CETP gene mutation is not associated with longevity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1053-1059.
 88. Zhong S, Sharp DS, Grove JS, Bruce C, Yano K, Curb JD, et al: Increased coronary heart disease in Japanese-American men with mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene despite increased HDL levels. *J Clin Invest* 1996; 97: 2917-2923.
 89. Okamoto H, Yonemori F, Wakitani K, Minowa T, Maeda K, Shinkai H: A cholesteryl ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. *Nature* 2000; 406: 203-207.
 90. de Grooth GJ, Kuivenhoven JA, Stalenhoef AF, de Graaf J, Zwinderman AH, Posma JL, et al: Efficacy and safety of a novel cholesteryl ester transfer protein inhibitor, JTT-705, in humans: a randomized phase II dose-response study. *Circulation* 2002; 105: 2159-2165.
 91. Clark RW, Sutfin TA, Ruggeri RB, Willauer AT, Sugarman Ed, Magnus-Aryitey G, et al: Raising high-density lipoprotein in humans through inhibition of cholesteryl ester transfer protein: an initial multidose study of torcetrapib. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 490-497.
 92. Brousseau ME, Schaefer EJ, Wolfe ML, Bloedon LT, Digenio AG, Clark RW, et al: Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med* 2004; 350: 1505-1515.

93. Nissen SE, Tardif JC, Nicholls SJ, Revkin JH, Shear CL, Duggan WT, et al: Effect of torcetrapib on the progression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 1304-1316.
94. Kastelein JJ, van Leuven SI, Burgess L, Evans GW, Kuivenhoven JA, Barter PJ, et al: Effect of torcetrapib on carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 2007; 356: 1620-1630.
95. Bots ML, Visseren FL, Evans GW, Riley WA, Revkin JH, Tegeler CH, et al: Torcetrapib and carotid intima-media thickness in mixed dyslipidaemia (RADIANCE 2 Study): a randomised, double-blind trial. *Lancet* 2007; 370: 153-160.
96. Ishigami M, Yamashita S, Sakai N, Arai T, Hirano K, Hiraoka H, et al: Large and cholesteryl ester-rich high-density lipoproteins in cholesteryl ester transfer protein (CETP) deficiency can not protect macrophages from cholesterol accumulation induced by acetylated low-density lipoproteins. *J Biochem* 1994; 116: 257-262.
97. Ohta T, Nakamura R, Takata K, Saito Y, Yamashita S, Horiuchi S, et al: Structural and functional differences of subspecies of apoA-I containing lipoprotein in patients with plasma cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Lipid Res* 1995; 36: 696-704.
98. Franceschini G, Sirtori CR, Capurso A, Weisgraber KH, Mahley RW: A-I Milano apoprotein. Decreased high density lipoprotein cholesterol levels with significant lipoprotein modifications and without clinical atherosclerosis in an Italian family. *J Clin Invest* 1980; 66: 892-900.
99. Weisgraber KH, Bersot TP, Mahley RW, Franceschini G, Sirtori CR: A-I milano apoprotein. Isolation and characterization of a cysteine-containing variant of the A-I apoprotein from human high density lipoproteins. *J Clin Invest* 1980; 66: 901-907.
100. Sirtori CR, Calabresi L, Franceschini G, Baldassarre D, Amato M, Johansson J, et al: Cardiovascular status of carriers of the apolipoprotein A-I (Milano) mutant: the Limone sul Garda Study. *Circulation* 2001; 103: 1949-1954.
101. Ameli S, Hultgardh-Nilsson A, Cercek B, Shah PK, Forrester JS, Ageland H, et al: Recombinant apolipoprotein A-I Milano reduces intimal thickening after balloon injury in hypercholesterolemic rabbits. *Circulation* 1994; 90: 1935-1941.
102. Shah PK, Nilsson J, Kaul S, Fishbein MC, Ageland H, Hamsten A, et al: Effects of recombinant apolipoprotein A-I (Milano) on aortic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1998; 97: 780-785.
103. Nilsson J, Dahlgren B, Ares M, Westman J, Hultgardh Nilsson A, Cercek B, et al: Lipoprotein-like phospholipid particles inhibit the smooth muscle cell cytotoxicity of lysophosphatidylcholine and platelet-activating factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 13-19.
104. Dimayuga P, Zhu J, Oguchi S, Chyu KY, Xu XO, Yano J, et al: Reconstituted HDL containing human apolipoprotein A-I reduces VCAM-1 expression and neointima formation following periaortic cuff-induced carotid injury in apoE null mice. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 264: 465-468.
105. Kaul S, Coin B, Hedayiti A, Yano J, Cercek B, Chyu KY, et al: Rapid reversal of endothelial dysfunction in hypercholesterolemic apolipoprotein E-null mice by recombinant apolipoprotein A-I(Milano)-phospholipid complex. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1311-1319.
106. Marchesi M, Booth EA, Davis T, Bisgaier CL, Lucchesi BR: Apolipoprotein A-I(Milano) and 1-palmitoyl-2-oleoyl phosphatidylcholine complex (ETC-216) protects the in vivo rabbit heart from regional ischemia-reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311: 1023-1031.
107. Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Cooper CJ, Yasin M, et al: Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *J Am Med Acad* 2003; 290: 2292-2300.
108. Ibanez B, Vilahur G, Cimmino G, Speidl W, Pinero A, Choi BG, et al: Rapid change in plaque size, composition and molecular footprint following recombinant ApoA-I_{Milano} (ETC-216) administration. Magnetic resonance imaging study in an experimental model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: 1104-1109.

Es más difícil ocultar los sentimientos que tenemos que simular los que no tenemos.

LA ROCHEFOUCALD